

BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

PROTEINAS U.S.
Método Rojo del Pyrogallol

Reactivo para la determinación cuantitativa de las proteínas totale en orina y LCR humano.

REF 97016	**R1** 2 x 113 mL	**R2** 2 x 12 mL	**R3** 1 x 10 mL

CODIGO CNQ: AX

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS
Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256

CE

IVD **USO IN VITRO**

SIGNIFICACION CLINICA (1)

La determinación de las proteínas totales en orina y líquido cefalorraquídeo (LCR) se utiliza respectivamente para el diagnóstico de enfermedades renales o del sistema nervioso central. Una elevación de la concentración de las proteínas urinarias se encuentra en el momento de un esfuerzo vigoroso, fiebre, hipotermia, gammapatías monoclonales, nefritis, nefropatia diabética o infección de las vías urinarias.
La determinación de las proteínas totales en el LCR es una ayuda para el diagnóstico de meningitis, encefalitis, poliomielitis, neurosífilis, tumores del sistema nervioso central o hemorragias cerebrales.

PRINCIPIO (4) (7)

El método descrito es el de Fujita modificado por Watanabe y al. El Rojo de Pyrogallol combinado con molibdato de sodio forma un complejo coloreado rojo que se absorbe a 460 nm. En medio ácido, la fijación de este complejo sobre las agrupaciones aminadas de las proteínas desplaza el pico de absorción a 600 nm. La intensidad de la coloración azul medida a 600 nm (578-612) es proporcional a la concentración en proteínas en la muestra.

REACTIVOS

Vial R1 **TAMPON**

Molibdato de sodio 0,04 mmol/L

Vial R2 **ROJO DE PYROGALLOL**

T+, F R11-39/23/24/25 S7-16-36-37-45

Metanol 10 %
Rojo de Pyrogallol 0,06 mmol/L

T+, F:	**Muy toxico, Inflamable.**
R11	**Fácilmente inflamable.**
R39	**Peligro de efectos irreversibles muy graves.**
R23/24/25	**Toxico por inhalación, contacto con la piel y por ingestión.**
S7	**Conservar el recipiente.**
S16	**Conservar apartado de toda llama.**
S36/37	**Poner vestimenta de protección y guantes adecuados.**
S45	**En caso de accidente o malestar, consultar inmediatamente un medico (enseñarle la etiqueta del vial).**

Vial R3 **STANDARD**

Albúmina bovina 1,0 g/L (100 mg/dL)

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.
- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo: verter el contenido del vial R2 en el vial R1.
Mezclar por inversión para homogeneizar la solución.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

A la recepción, almacenar el Standard (vial R3) a 2-8°C.
Almacenar los reactivos (vial R1 y R2) a 18-25°C y protegido de la luz.
- Estabilidad del Standard (vial R3): transvasar la cantidad necesaria, tapar de nuevo y almacenar a 2-8°C
- En el vial de origen bien cerrado, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja, si son utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas.
- El reactivo (vial R1 + R2) es estable 1 año en ausencia de contaminación.
- No utilizar el reactivo si hay turbidez o si la absorbencia a 600 nm es > 0,600 ó < 0.050
- No utilizar el reactivo de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2)

Orina (micción o recogido fraccionado).
Orina de 24 h: Orina recién recogida, conservadas a 2-8°C, sin conservante, centrifugadas 10 minutos a 3000 RPM y en la cual el pH se ajusta a 7,0.
LCR: Recién extraído, y centrifugado antes del análisis.
Las muestras no deben contener sangre.

Estabilidad en orina:
- Más de un año a – 20°C.

Estabilidad en LCR:
- hasta 72 h a 2-8°C.
- 6 meses a - 20°C.
- indefinidamente a – 70°C.

INTERFERENCIAS (3) (5)

Hemoglobina: sobreestimación de 4 a 6 %.

El Plasmion™: interfiere y da valores muy sobreestimados.
El Rojo de Pyrogallol reconoce, en parte, los solutos de relleno vascular a base de gelatina, y conduce a una interferencia positiva frecuente en los pacientes en reanimación.
El Rojo de Pyrogallol reconoce difícilmente las cadenas ligeras de gamma-globulinas.
Al día de hoy, ninguna interferencia medicamentosa ha sido descrita con el Rojo de Pyrogallol.
Young D.S. ha publicado una lista de las sustancias que interfieren con la prueba.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Controles urinarios y/o LCR normales y patológicos.

CALIBRACION

- Standard de la caja (vial R3) trazable sobre SRM 927d.
- O cualquier calibrador trazable sobre un método o un material de referencia.

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.
Es recomendado calibrar de nuevo en los siguientes casos:
1. Cambio del lote de reactivo.
2. Después operaciones de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos se salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de suero de control recientemente reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD CODIGO CNQ: AX

- Utilizar controles urinarios y/o LCR normales y patológicos titulados para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Se recomienda controlar en los siguientes casos:
- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:
1. Repetir la operación utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro vial de control y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar de nuevo utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

En orina (micción)	< 14.0 mg/dL
En orina de 24 h	
en reposo	< 80 mg/24 h
Después de ejercicio físico intenso	< 250 mg/24 h
En LCR	**mg/dL**
Prematuro	15 - 130
Recién-nacido	40 - 120
< 1 mes	20 - 80
> 1 mes	15 - 40

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios valores usuales para la población estimada.

PRESTACIONES

Seguir Procedimiento n°1:

Intra-serie N = 20	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Media mg/dL	13.1	57.6
S.D.mg/dL	0,39	0,81
C.V. %	2,98	1,41

Inter-serie N = 20	*Tasa baja*	*Tasa elevada*
Media mg/dL	20	66
S.D.mg/dL	1.0	2.1
C.V. %	5,00	3,18

Límite de detección: aproximadamente 5 mg/L

Comparación con reactivo comercial: y = 0,7581 x +10.45

r = 0,9777

LIMITE DE LINEALIDAD (6)

Procedimiento n°1 (alta sensibilidad): Lineal hasta 150 mg/dL
Procedimiento n°2 (baja sensibilidad): Lineal hasta 600 mg/dL.
Más allá, diluir la muestra con NaCl a 9 g/L y hacer de nuevo la prueba teniendo en cuenta el factor de dilución en el cálculo del resultado. El límite de linealidad depende de la relación de dilución muestra/reactivo.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Procedimiento n°1:

Medir en tubos de ensayo bien identificados:	**Blanco**	**Standard**	**Prueba**
Reactivo de trabajo	1 mL	1 mL	1 mL
Agua desmineralizada	20 µL		
Standard		20 µL	
Muestra (Nota 2)			20 µL

Mezclar bien. Dejar reposar por lo menos 10 minutos a temperatura ambiente. Leer las absorbencias a 600 nm (578 - 612) contra el blanco de reactivo.

Procedimiento n°2:

Medir en tubos de ensayo bien identificados:	**Blanco**	**Standard**	**Prueba**
Reactivo de trabajo	1 mL	1 mL	1 mL
Agua desmineralizada	5 µL		
Standard		5 µL	
Muestra (Nota 2)			5 µL

Mezclar bien. Dejar reposar por lo menos 10 minutos a temperatura ambiente. Leer las absorbencias a 600 nm (578 - 612) contra el blanco de reactivo.

Notas:
1- Tras 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, las proteínas en concentración elevada pueden precipitar y falsear los resultados.
2- Muestra: Orina o LCR.
3- Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{Abs (Prueba)}}{\text{Abs (Standard)}} \times \text{concentración del Standard}$$

BIBLIOGRAFIA

(1) *TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 512-530.*
(2) *Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p.916-919.*
(3) *YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p 3-498 à 3-500 et 3-506 à 3-511*
(4) *Watanabe N. et al, Clin. chem. 32/8 (1986), 1551-1554.*
(5) *Le Bricon T., Ann. Biol. Clin. (2001),59, p.701-715*
(6) *Andries J. Bakker, Baukje Jellema, Ann. Clin Biochem., 36 (1999), p.163-167*
(7) *Fujita Y. et Al., Color reaction between pyrogallol red molybdenum complex and Protein. Bunseki Kagaku, 1983, 32, E379-E386*

Fabricante | Fecha de caducidad | IVD Uso in vitro | Temperatura de conservación | REF Referencia del producto | Consultar instrucciones | LOT Numero de lote | Protegido de la luz | Suficiente para | → Diluir con